



経口摂取異常プリオン蛋白の取り込みおよび伝播機構の解明

著者	高倉 郁朗
号	52
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	農博第1147号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00122780

たかくら　いくろう

氏名（本籍地）　高　倉　郁　朗

学　位　の　種　類　博士（農学）

学　位　記　番　号　農博第 1147 号

学　位　授　与　年　月　日　平成 28 年 3 月 25 日

学　位　授　与　の　要　件　学位規則第 4 条第 1 項

研　究　科　，　専　攻　東北大学大学院農学研究科（博士課程）応用生命科学専攻

論　文　題　目　経口摂取異常プリオン蛋白の取り込みおよび伝播機構の解明

博士論文審査委員　（主査）教　授　麻生　久

教　授　豊水　正昭

教　授　種村　健太郎

准教授　北澤　春樹

博士論文内容要旨

経口摂取異常プリオン蛋白の取り込みお よび伝播機構の解明

東北大学大学院農学研究科
応用生命科学先攻
高倉 郁朗

指導教員 麻生 久 教授

第1章 諸言

伝達性海綿状脳症 (Transmissible spongiform encephalopathy: TSE)は致死性の神経変性疾患であり、プリオン病とも呼ばれる。TSE にはヒツジのスクレイピー、牛海綿状脳症 (BSE)およびヒトのクロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) などが含まれる。ヒトのプリオン病は現在、国の「指定難病」になっており、国を挙げての研究体制がとられている。また、英国において BSE 罹患牛由来の食品を介してヒトに感染する変異型 CJD が明らかになり、家畜の疾病の一つにとどまらず我々ヒトにとっても脅威であることが示された。我が国においては2001年に BSE 罹患牛が確認されて以来、生産者と消費者の双方に大きな影響を与えている。現在、食用に屠畜される全てのウシについて、BSE のスクリーニング検査が実施されている。このようにプリオン病は種を超えてヒトに伝播するため、その対策には多大なコストを要している。

TSE の病原体の本質はいまだ明らかではないが、病原因子はタンパク様感染粒子(プリオン)であるとする説が有力である。プリオンの構成要素として異常型プリオン蛋白 (PrP^{Sc}) がある。これは、幅広い種で保存され、神経細胞をはじめ免疫系細胞など様々な細胞で発現しているプリオン蛋白 (正常型プリオン蛋白: PrP^{C}) の立体構造が何らかの理由で変異し、蛋白分解酵素抵抗性を獲得したタンパク質である。TSE に感染した動物では、神経組織やリンパ組織等に PrP^{Sc} が蓄積しており、蓄積組織・臓器および蓄積量と病態の進行との間には明らかな相関が認められることから、 PrP^{Sc} が病原因子と密接に関わっていると考えられている。

変異型 CJD や BSE など多くの TSE が食餌を介してプリオンに感染するため、プリオン病の予防および診断、治療を考える上で、経口感染における病態を明らかにすることは重要である。食餌に混入した PrP^{Sc} は、胃や消化管における消化もしくは代謝に抵抗性であり、感染性に変化のない状態で主に小腸パイエル板から体内に侵入すると考えられている。小腸パイエル板を覆う濾胞随伴上皮 (follicle associated epithelium: FAE、ドーム上皮) には管腔内の高分子を取り込む M 細胞が存在し、細菌やウイルス

の侵入部位として知られるが、プリオンの体内への侵入口としても有力であると考えられている。小腸粘膜を通過した PrP^{Sc} は、パイエル板や腸間膜リンパ節などに蓄積し、増幅する。この増幅は PrP^{c} を異常型に変換することにより進行するため、 PrP^{c} を高発現するリンパ系組織や神経系に PrP^{Sc} は蓄積する。パイエル板などの末梢リンパ組織で増幅した PrP^{Sc} は、他のリンパ組織や脾臓といった組織・臓器へとリンパ管あるいは血流によって伝播し、再び増幅する。このような蓄積・増幅の過程で末梢神経系と何らかの形で接触する結果、神経系に侵入すると考えられている。神経系における PrP^{Sc} の伝播は、末梢から中枢へと求心性に進み、最終的に脳に蓄積して空胞化に代表される神経細胞の変性を惹起し、運動障害等の症状を呈して最終的に死に至る。

経口感染の病態に関する研究は数多くなされ、前述した全身的な機構は明らかになった。しかし、小腸上皮からの侵入部位や、伝播を担う細胞およびその経路については未だ特定には至っておらず、不明な点が多い。そこで本研究では、 PrP^{Sc} を経口投与したマウスから病態に関与している組織・臓器を経時的に採取し、異常型プリオン蛋白を検出する手法を用いて、 PrP^{Sc} の伝播を担う細胞種および伝播経路を経時的に解析することにより病態の解明を行った。

第2章 PrP^{c} ノックアウト (KO) マウスにおける経口感染病態の経時的解析

経口投与した PrP の体内動態を解析する手法として免疫組織化学的手法が一般的に用いられている。しかし、生体内の様々な細胞に発現する内因性の PrP^{c} と経口投与した外来性の PrP を識別し、投与した PrP のみを免疫組織化学的手法により検出することは非常に困難である。そこで、 PrP^{c} を欠損したマウス (KO マウス) を用い、このマウスに PrP^{Sc} を含むマウス脳乳剤を経口投与することによって、投与した PrP の体内動態を明確に検出できると考え、本実験を試みた。

KO マウスの十二指腸、空腸および回腸パイエル板における PrP の動態を経時的に解析した。経口投与 1 時間後より以前のパイエル板では、 PrP は検出されなかった。

十二指腸パイエル板において、投与 1 時間後に FAE および絨毛上皮において PrP を細胞内に取り込んだ上皮細胞を確認した。また、ドーム上皮下に PrP が散在し、濾胞下部に PrP^{Sc} 陽性細胞の集積が確認された（図 1）。投与 2 時間後以降、空腸および回腸パイエル板においてもドーム上皮下や濾胞下部における PrP の集積が確認された。パイエル板における PrP 陽性細胞は、十二指腸および空腸では投与 6 日後まで、回腸では投与 6 時間後まで確認された。この間、PrP 陽性細胞数は徐々に減少し、投与 10 時間後以降も陽性細胞は確認されたが、その数はパイエル板に数個程度であった。

次に、パイエル板から細胞が移動すると考えられる腸間膜リンパ節および脾臓における PrP 陽性細胞数の経時的推移を解析した。腸間膜リンパ節および脾臓ともに投与 2 日後から陽性細胞が確認された。腸間膜リンパ節においては、陽性細胞数は 2 日後が最も多く、6 日後には減少して 4 週および 10 週後では確認されなかった（図 2）。一方脾臓は、投与 6 日後および 4 週後の間に陽性細胞数が最大に達し、10 週後には確認されなかった（図 3）。両組織では PrP 陽性細胞が血管様構造周辺に比較的多く確認された。

以上の結果から、経口投与した PrP は 1 時間後にはパイエル板の FAE および絨毛上皮から生体内へ侵入することが明らかになった。また、侵入した PrP はドーム上皮下に存在する細胞に取り込まれ、ドーム上皮下から濾胞下部に集積することが確認された。この動態は投与後数時間以内という非常に早期の段階に起こることが確認された。さらに、生体への侵入部位であるパイエル板から腸間膜リンパ節および脾臓への伝播が確認された。これらの組織では、PrP 陽性細胞が血管様構造の周辺に認められたことより脈管系を介してパイエル板から移動したものと推測される。この移動は投与 2 日より早い段階で始まっている可能性が考えられた。投与 10 週後には両組織から PrP 陽性細胞は消失しており、他の組織への移動もしくは生体内で代謝され、検出限界以下に消失したと考えられる。

第 3 章 KO マウスにおける PrP 陽性細胞種の同定

前章において、経口投与した PrP は FAE を介して生体内に侵入することを確認した。FAE には上皮細胞の他に M 細胞という特殊な細胞が存在し、管腔内の巨大分子を取り込む機能を持つことから、PrP の侵入部位と考えられているが、未だ明らかではない。また、上皮を通過した PrP は上皮下に存在する何らかの細胞に取り込まれることによりパイエル板および他の組織へ移動したことが推測された。M 細胞は基底膜側がポケット状に大きく陥入した形態的特徴を持ち、このポケットには M 細胞によって取り込まれた管腔内の抗原情報を受け取る樹状細胞やマクロファージといった抗原提示細胞が存在することが知られている。したがって本章では、FAE において PrP を取り込んだ細胞種およびパイエル板において PrP を取り込んだ細胞種の同定を試みた。

FAE において PrP を取り込んだ細胞を確認した染色済み切片を用いて、M 細胞マーカーである annexin V を用いた再染色を行った。その結果、annexin V 陽性であることが確認された（図 4）。また、annexin V は樹状細胞にも発現することが報告されているが、パイエル板の PrP 陽性細胞は annexin V 陰性であった（図 4）。次に投与 1 時間後の濾胞下部に PrP 陽性細胞の集積が認められた切片を用い、マクロファージのマーカーである CD11b による再染色を行った。その結果、PrP 陽性細胞の集団は CD11b 陽性であることが確認された（図 5）。その他、パイエル板に存在する B 細胞、T 細胞および濾胞樹状細胞（follicular dendritic cell: FDC）の特異的マーカーによる再染色を行ったが、濾胞下部の PrP 陽性細胞の集団はいずれのマーカーに対しても陰性であった。

以上の結果から、FAE において管腔内に存在する PrP を取り込み、生体内への侵入口として機能する細胞は annexin V 陽性の M 細胞であることが明らかとなった。さらに、パイエル板濾胞下部への集積を担う細胞として CD11b 陽性のマクロファージが同定された。パイエル板に存在する樹状細胞および B 細胞、T 細胞ならびに FDC はいずれも陰性であったことから、パイエル板における PrP 陽性細胞はマクロファージのみであると考えられる。従って、M 細胞直下に存在するマクロファージは M 細胞から

PrP を受け取り、何らかの理由で濾胞下部に移動することが示唆された。

次に、脾臓における PrP 陽性細胞種の同定を同一切片再染色法を用いて試みた。その結果、脾臓における PrP 陽性細胞は、マクロファージの特異的マーカーである CD14 陽性細胞であった（図 6）。一方、B 細胞、T 細胞、樹状細胞および FDC のマーカーにはいずれも陰性であった。したがって、脾臓における PrP 陽性細胞は、マクロファージであり、パイエル板における PrP 陽性細胞と一致したことから、パイエル板で PrP を取り込んだマクロファージが脾臓へと伝播したことが示唆された。

第 4 章 KO マウスにおける PrP^{Sc} 陽性細胞と末梢神経との接触

パイエル板や脾臓といった組織は、高度に神経支配を受ける組織であり、末梢神経細胞が多く存在する。生体に侵入した PrP はこの末梢神経に侵入することにより、最終的に中枢神経の変性を引き起こすと考えられている。末梢神経系への侵入機構は解明されていないが、何らかの形で PrP と末梢神経細胞が接触することが必要である。KO マウスでは、PrP の神経系への侵入に必要な PrP^C を欠損しているため、神経系への侵入自体は起こらないが、末梢神経細胞と PrP 陽性細胞の接触の有無は解析可能と考え本実験を行った。

パイエル板および脾臓において、PrP 陽性細胞の集団が局在する部位における末梢神経細胞の存在を検出することを同一切片再染色法により試みた。末梢神経細胞は特異的マーカーである PGP9.5 により検出した。その結果、パイエル板および脾臓ともに PrP 陽性細胞の集団の近傍に末梢神経細胞が存在することを確認した（図 7）。実際に両者の接触が起こっているかどうかは不明だが、パイエル板や脾臓において PrP 陽性細胞と末梢神経細胞が接触する機会が十分にあることは捉えられた。パイエル板および脾臓における PrP 陽性細胞は経口投与後の早い段階から確認されていることから、末梢組織における神経系への侵入は、早期から起こっている可能性が考えられた。

第 5 章 KO マウスにおける PrP の取り込みおよび伝播モデル

前章までに KO マウスにおける経口感染病態の経時的解析および病態に関与する細

胞種の同定を行った。その結果、経口摂取した PrP は投与 1 時間後という早期に小腸パイエル板の M 細胞を介して生体内に侵入することが明らかになった。M 細胞を介して生体に侵入した PrP はマクロファージに受け渡され、パイエル板に蓄積するとともに、腸間膜リンパ節および脾臓へと伝播すること、さらにこの伝播にはマクロファージが重要な役割を担うことが明らかとなった。また、PrP を取り込んだマクロファージはパイエル板や脾臓において末梢神経細胞と接触し、PrP の神経侵入にも関与する可能性が示唆された。

第 6 章 野生型 (WT) マウスにおける経口感染病態の経時的解析

本章においては、WT マウスにおける異常プリオン蛋白経口感染病態を経時的に解析し、PrP^C が発現しているマウスにおける病態を明らかにし、KO マウスの結果と比較することにより、生体における PrP^C の役割と感染に及ぼす影響を解明することを試みた。投与後の組織採取および解析手法は KO マウスと同様とした。組織中の PrP^{Sc} を免疫組織化学的手法で検出するために、近年作出された特異的抗体を用いた。さらに、PrP^{Sc} 検出には PrP^C への抗体の結合を阻害する必要があり、抗体添加の前処理として組織切片を 5M グアニジンに浸漬する処理を施した。

はじめに、KO マウスと同様に生体への侵入部位と考えられるパイエル板における PrP^{Sc} の動態を解析した。投与 15 分および 30 分後では PrP^{Sc} は検出されなかった。投与 1 時間後の FAE に PrP^{Sc} 陽性粒子を取り込んだ上皮細胞を確認した (図 8)。この PrP^{Sc} 陽性粒子は、上皮細胞の管腔側および基底膜側の双方の細胞質で認められたことから、上皮細胞による取り込み直後と上皮細胞を通過して基底膜側に存在する別の細胞に受け渡す前の状態を捉えたものと考えられた。また、濾胞中心および濾胞下部にも PrP^{Sc} 陽性像が認められた。FAE における PrP^{Sc} 陽性粒子の取り込み像は、投与 2 時間および 6 時間後にも確認され、経口投与した PrP^{Sc} が時間をかけて生体内に侵入する様子が捉えられた。パイエル板における陽性像は投与 8 時間後には全く確認されなかった (図 8)。しかし、投与 4 週以降 20 週後にかけて PrP^{Sc} 陽性細胞が継続的に検出さ

れた（図 9）。投与 30 週後ではパイエル板における陽性像は確認されなかったが、絨毛固有層に PrP^{Sc} 陽性細胞が検出された（図 10）。小腸パイエル板における PrP^{Sc} 陽性細胞の局在部位は、濾胞中心および濾胞下部に多く認められた。

次に腸間膜リンパ節および脾臓における PrP^{Sc} 陽性細胞の経時的解析を行った。腸間膜リンパ節では、投与 4 週後に PrP^{Sc} 陽性細胞が確認され、その後 30 週まで継続して確認された（図 11）。PrP^{Sc} 陽性細胞は、4 週後では濾胞内に認められたが、10 週以降は辺縁部に局在した。PrP^{Sc} 陽性細胞数の推移は投与 10 週および 20 週後が最も多く、30 週後では減少していた。一方、脾臓においては投与 4 週後に PrP^{Sc} 陽性細胞が確認されたが、10 週および 20 週後では PrP^{Sc} 陽性細胞は確認されなかった。投与 30 週後に再び確認されたものの、解析した期間を通じて脾臓における PrP^{Sc} 陽性細胞数は少ない印象であった（図 12）。PrP^{Sc} 陽性細胞は血管様構造の周囲に局在した。

WT マウスでは生体に侵入した PrP^{Sc} が中枢神経系に移行することから、脳における PrP^{Sc} の経時的変化を解析した。脳において特に PrP^{Sc} が蓄積することが知られている海馬歯状回および視床下部の 2 領域について、PrP^{Sc} の蓄積と神経変性（空胞化）の程度を投与 4 週から 30 週後にかけて解析した。PrP^{Sc} は両部位ともに投与 20 週後から検出され、投与 30 週後では非常に強い陽性像を確認した（図 13）。空胞化については、両部位とも投与 30 週後に確認された。特に視床下部では非常に強い空胞化が認められた（図 13）。両部位ともにはじめに PrP^{Sc} の神経細胞への蓄積が起こり、それに続いて神経変性が起こるという経時的推移を示していた。投与 30 週後の組織を採取した WT マウスでは、末期のプリオン病の特徴である歩行障害を呈したことを確認しており、脳の空胞化と合わせてこのマウスがプリオン病を発症したことを示している。

第 7 章 野生型 (WT) マウスにおける腸管腔内 PrP^{Sc} を取り込む細胞種の同定

KO マウスにおける解析の結果、腸管腔内の PrP^{Sc} を取り込む細胞種として FAE に存在する M 細胞を同定した。前章において、WT マウスにおいても投与 1 時間後から KO マウスと同様に FAE において腸管腔内の PrP^{Sc} を取り込む細胞を確認した。本章

では、この細胞種を同定し、WT マウスでの経口感染病態における PrP^{Sc} の生体への侵入部位を特定することを試みた。

M 細胞の特異的マーカーとして Glycoprotein 2 (GP2)を用いた。近年、M 細胞マーカーとして見出された GP2 は、GPI アンカー型タンパク質であり、腸管上皮細胞では M 細胞に特異的に発現している。KO マウスでの手法と同様に、既に染色済みの切片を用いて、抗 GP2 抗体を用いて再染色した。その結果、FAE において確認された PrP^{Sc} を取り込んだ上皮細胞は、GP2 陽性の M 細胞であることが確認された (図 14)。また、この細胞は基底膜側に M 細胞の形態的特徴である大きなポケット様構造があることが確認されたことより、M 細胞であると判断された。

第 8 章 WT マウスにおける PrP^{Sc} の取り込みおよび伝播モデル

前章までに WT マウスにおける経口摂取した PrP^{Sc} の小腸パイエル板における取り込みと体内伝播について解析した。PrP^{Sc} は GP2 陽性 M 細胞より投与 1 時間後から生体内に侵入し、パイエル板に蓄積した。さらに腸間膜リンパ節および脾臓への伝播が確認された。パイエル板における蓄積は、濾胞中心および濾胞下部に多く認められた。この部位には、PrP^c を強発現する FDC が局在していることから、FDC がパイエル板での蓄積の場となっていることが示唆された。さらに、脳への蓄積が確認されたことから、末梢組織において末梢神経系に侵入し、求心性に伝播して中枢神経へと侵入したことが示唆された。

第 9 章 PrP^{Sc} への経口感染病態における生体内 PrP^c の役割

本研究において、KO マウスおよび WT マウスそれぞれにおける経口感染病態を経時的に解析するとともに、病態に関わる細胞種を同定した。本章では、両者の病態を比較し、明らかになった相違点から経口感染病態における生体内 PrP^c の発現の役割について考察する。

本研究により明らかになった相違点として、①パイエル板における PrP^{Sc} の蓄積部位、②パイエル板における PrP^{Sc} の蓄積期間、③中枢神経系への移行の有無、④PrP^{Sc}

陽性細胞の体内伝播が認められる期間の 4 点が考えられた。①については、KO マウスでは濾胞下部に、WT マウスでは濾胞中心に多く蓄積した。濾胞中心には PrP^c を強発現する FDC が存在することから、WT マウスにおける蓄積部位は FDC であると考えられる。FDC は濾胞中心に常在し、遊走能はないため、何らかの仕組みにより上皮を通過した PrP^{Sc} が濾胞中心に存在する FDC に受け渡されたと考えられる。②については、KO マウスでは投与 10 時間後にはパリエル板からほぼ消失した。一方、WT マウスでは投与 20 週まで PrP^{Sc} が検出され、30 週後に絨毛で検出された。これは、生体に侵入した PrP^{Sc} は、PrP^c を基に増幅するという仮説を支持する事象であると考えられる。すなわち、KO マウスでは、体内での PrP^{Sc} の増幅が起こらないために投与 10 時間後に消失した一方、WT マウスでは PrP^{Sc} の増幅が継続して起こるために長期間検出されたと考えられる。③の中樞神経系への移行については、KO マウスでは移行が起こらないのに対して、WT マウスでは移行および蓄積が確認された。リンパ組織に蓄積する間に末梢神経系に侵入し、さらに末梢神経系を介して中樞神経系へ移行したものと考えられる。したがって、リンパ組織における末梢神経系への移行には PrP^c の発現が必要であることを示している。最後の④PrP^{Sc} の体内伝播が認められる期間については、KO マウスでは投与 4 週後にほぼ体内から消失したことから体内伝播自体はそれ以前に終わっていたと考えられる。一方、WT マウスでは投与 30 週後の発症時点で絨毛固有層や腸間膜リンパ節、脾臓に陽性細胞が認められたことより、依然として体内伝播が起こっていると考えられる。KO マウスでは PrP^{Sc} の増幅が起こらないため伝播も短期間に収束するが、WT マウスでは増幅と伝播が繰り返し起こるために発症時点においても伝播が継続していると考えられる。

第 10 章 総括

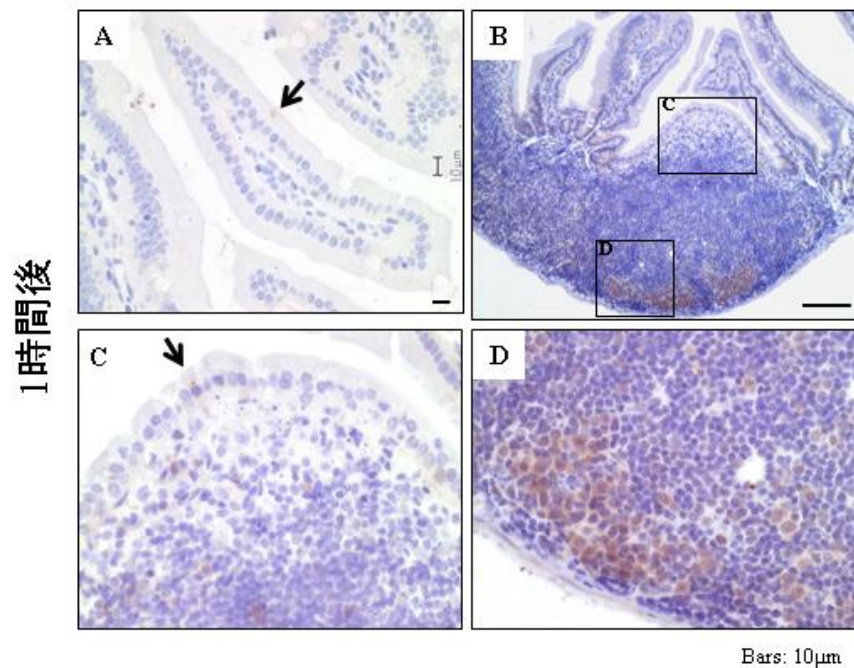
本研究では PrP^{Sc} の経口感染病態の解明と PrP^c の役割について明らかにすることを目的として研究を行った。本研究の結果、以下のことが明らかになった。

1. 投与 1 時間後という非常に早期から M 細胞による PrP^c 非依存的な PrP^{Sc} の取り込

みが起こる。

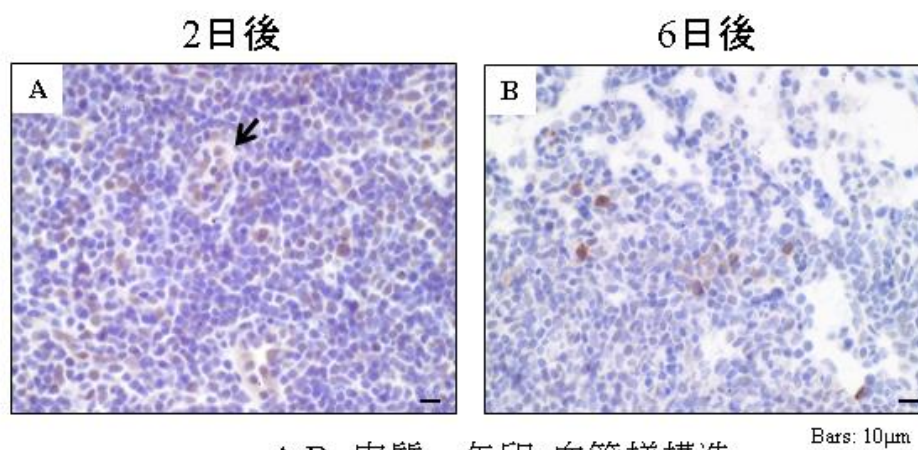
2. M 細胞を介して生体に侵入した PrP^{Sc} はパイエル板に蓄積するが、蓄積に関与する細胞種は PrP^c 発現の有無によって異なる。
3. PrP^c 発現の有無に関わらず、PrP^{Sc} はパイエル板から他のリンパ組織へ移行するが、その期間は PrP^c 発現に依存する。
4. リンパ組織から中枢神経系への移行および発症に至るには PrP^c の発現が必須である。

以上のことから、PrP^{Sc} への経口感染病態における生体内への侵入部位として M 細胞が大きな役割を果たしており、M 細胞を介した侵入は経口感染後非常に早い段階で起こり得ること、また PrP^c 非依存的な侵入であることを示した。さらに、中枢神経系への移行および発症には PrP^c が必要であり、中枢神経系への移行は、神経症状を呈する以前から起こっている可能性を示した。本研究より得られた知見は TSE の経口感染病態の解明に貢献し、TSE の発症前診断法や予防法の確立に寄与する。したがって、本研究の成果が今後の TSE 研究の進歩に大きく貢献すると考えられる。



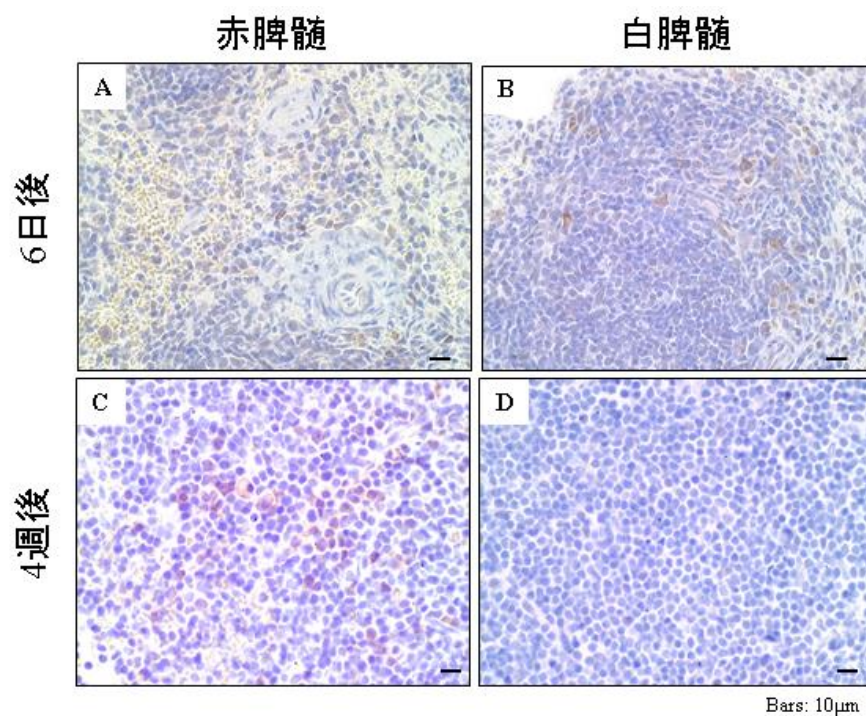
A: 絨毛上皮、B: パイエル板全体像、C: ドーム上皮、D: 濾胞下部
矢印: PrPを取り込んだ上皮細胞

図 1 KOマウス十二指腸パイエル板におけるPrPの検出



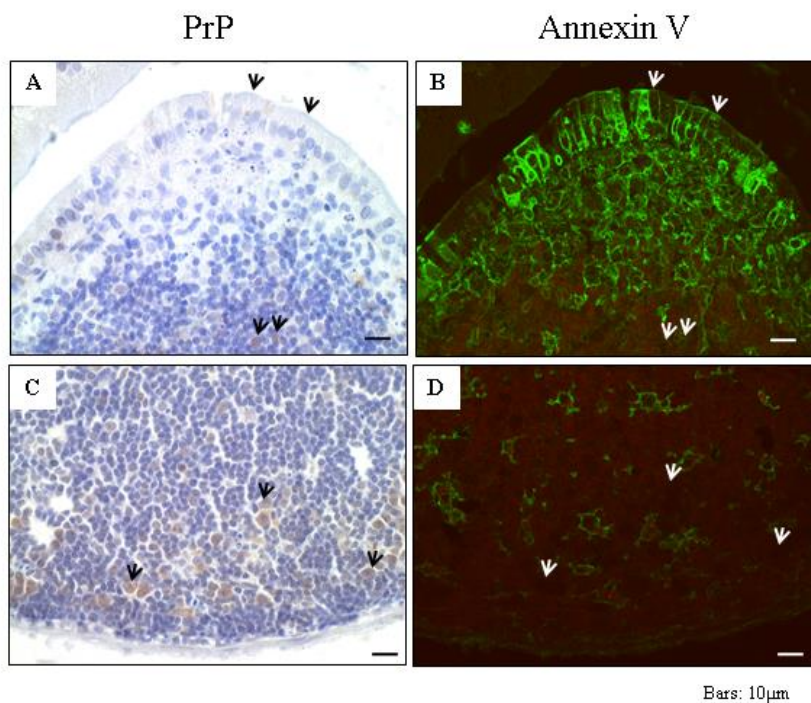
A-B: 皮質、矢印: 血管様構造

図 2 KOマウス腸間膜リンパ節におけるPrPの検出



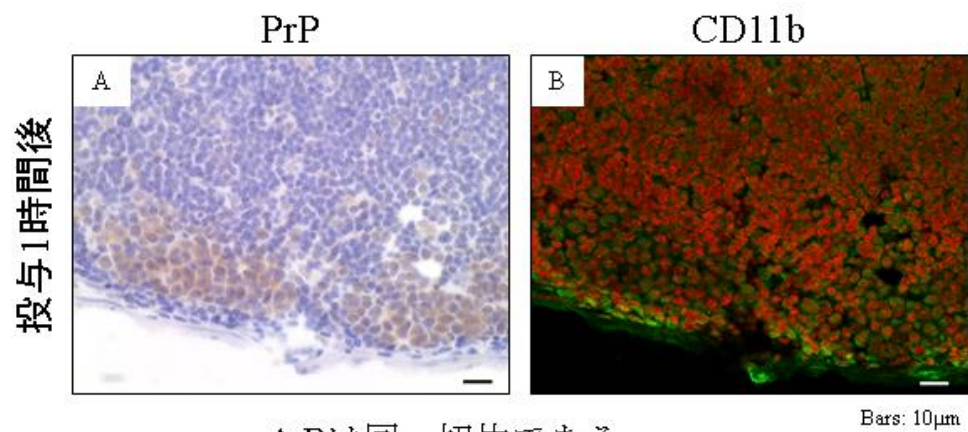
A-B, C-Dは、同一切片の赤脾髄と白脾髄である。

図 3 KOマウス脾臓におけるPrPの検出



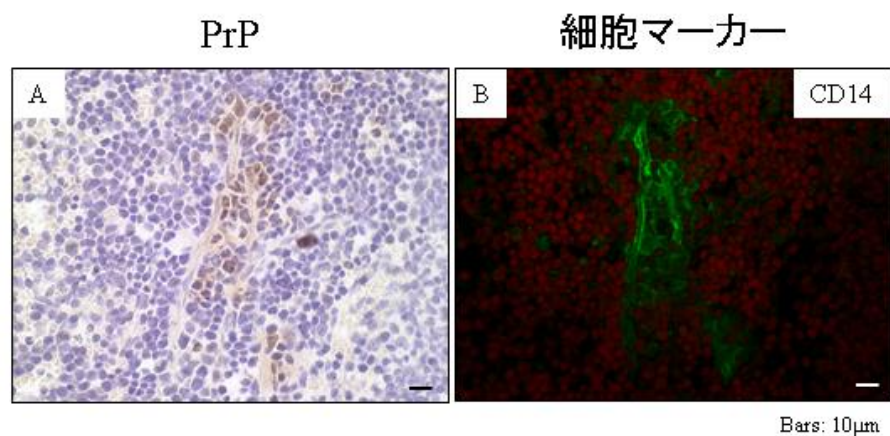
A, B: ドーム上皮下、C, D: 濾胞下部、矢印: 同一細胞

図 4 KOマウス十二指腸パイエル板におけるPrPとannexin Vの同一切片再染色



A-Bは同一切片である。

図5 KOマウス十二指腸パイエル板におけるPrPとCD11bの同一切片再染色



A-Bは同一切片である。CD14: マクロファージ

図6 KOマウス脾臓におけるPrPと各細胞マーカーの同一切片再染色

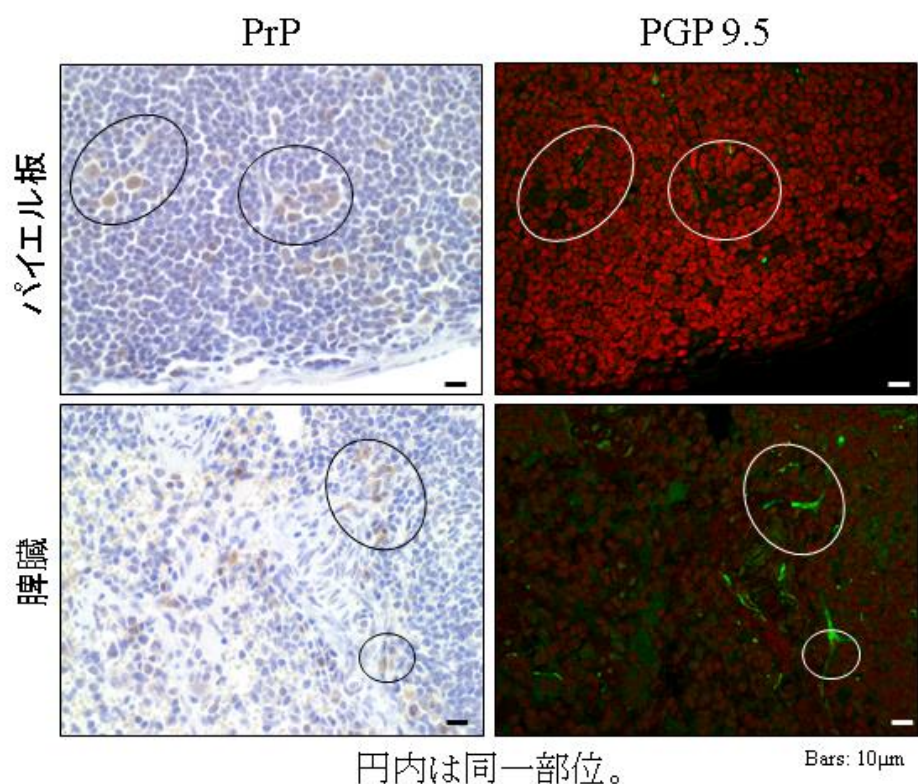


図 7 KOマウスPrP陽性細胞と神経線維の接触

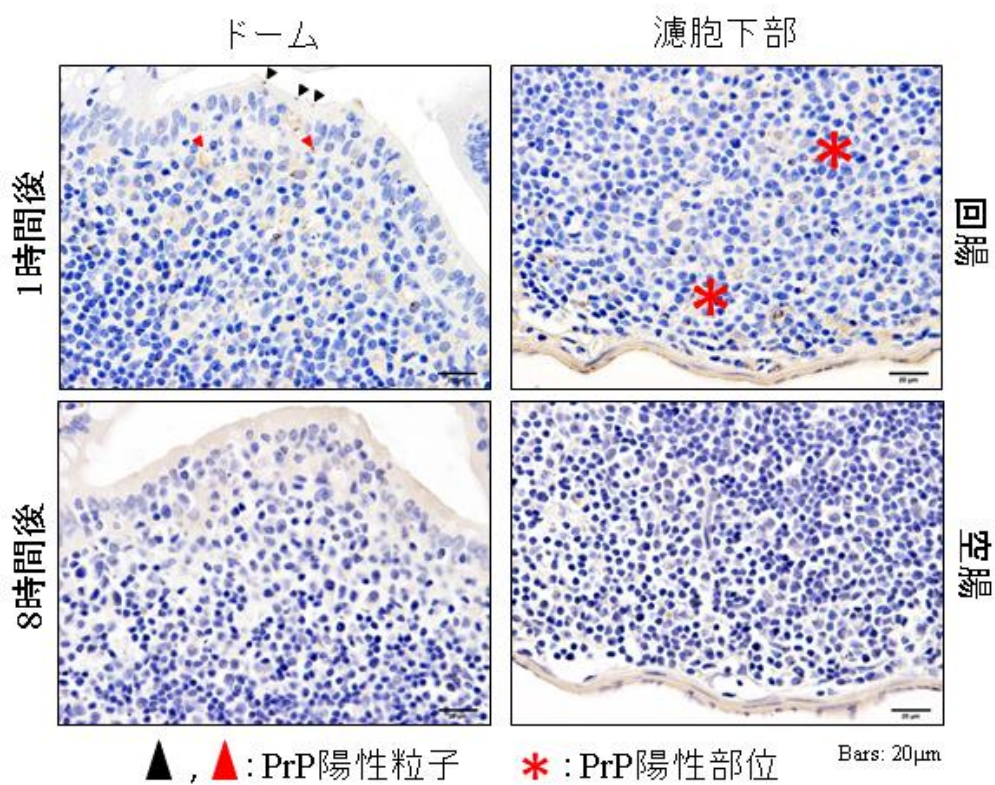


図 8 WTマウスパイエル板におけるPrP^{Sc}の検出 (投与初期)

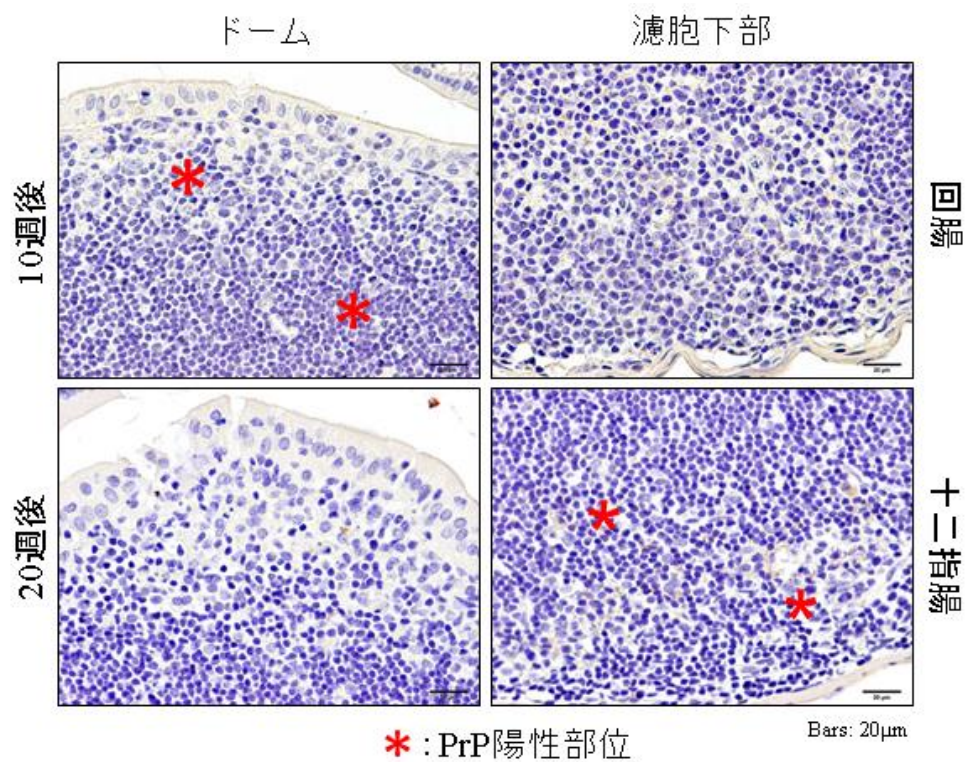


図9 WTマウスパイエル板におけるPrP^{Sc}の検出（投与後期）

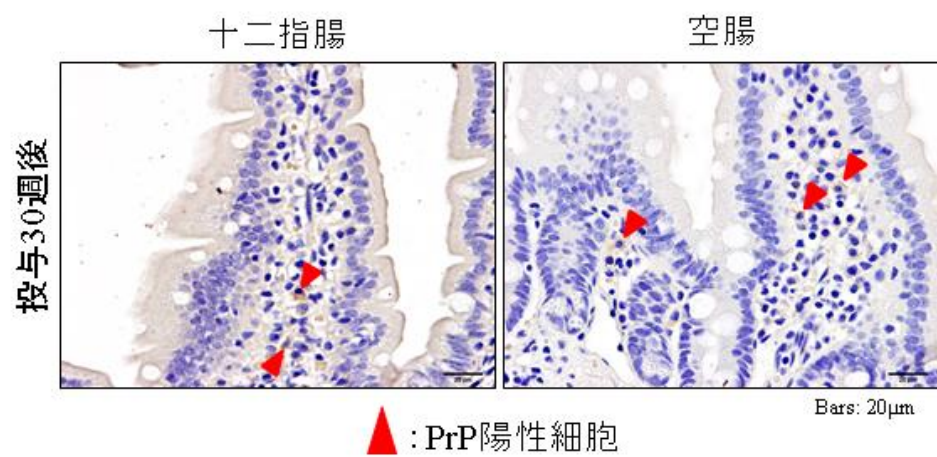


図 10 小腸絨毛固有層におけるPrP^{Sc}陽性細胞

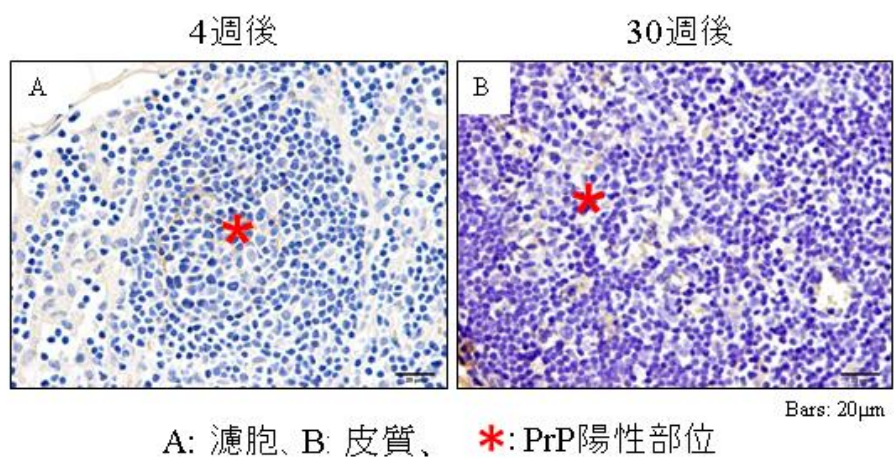


図 11 WTマウス腸間膜リンパ節におけるPrP^{Sc}の検出

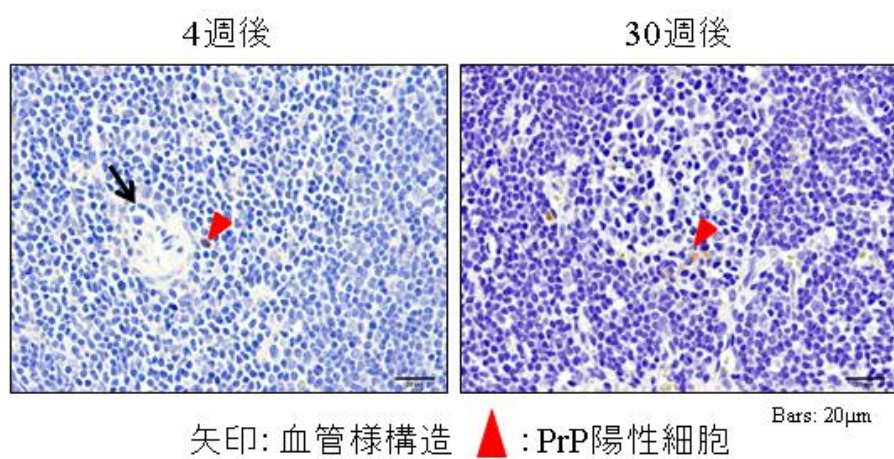


図 12 WTマウス脾臓におけるPrP^{Sc}の検出

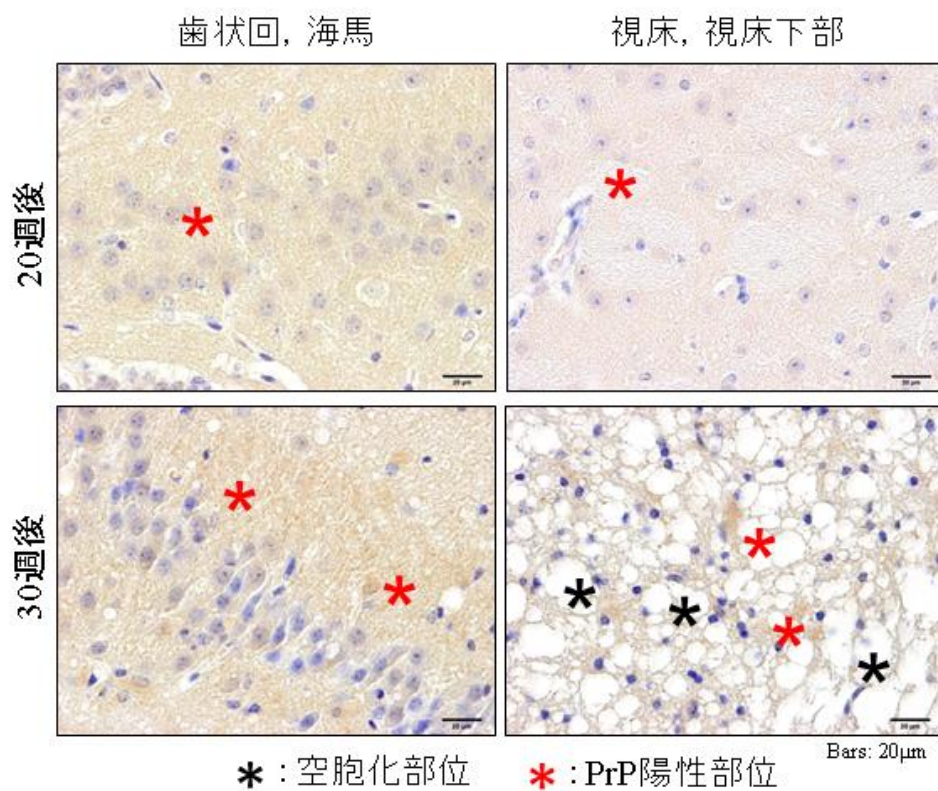


図 13 WTマウス脳におけるPrP^{Sc}の蓄積と空胞化

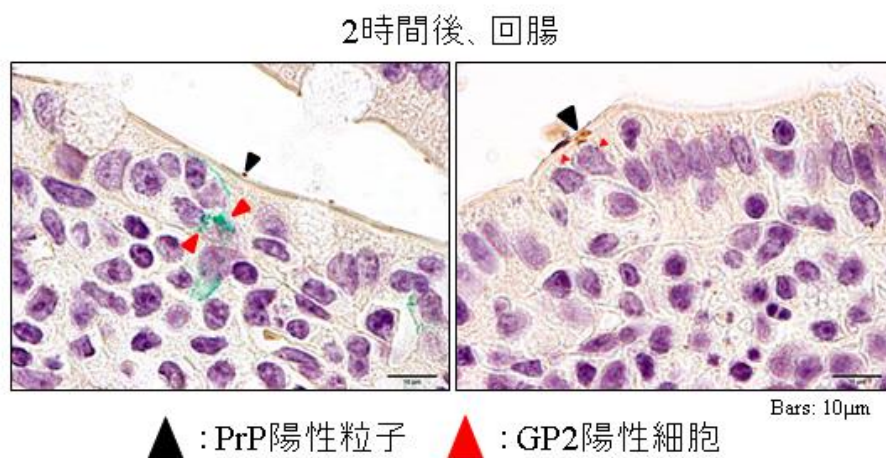


図 14 WTマウス小腸パイエル板ドーム上皮におけるM細胞によるPrP^{Sc}の取り込み

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名	高倉 郁朗
審 査 委 員	主査：教授 麻生 久 副査：教授 豊水 正昭 教授 種村 健太郎 准教授 北澤 春樹
学 位 論 文 題 目	経口摂取異常プリオン蛋白の取り込みおよび伝播機構の解明

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

伝達性海綿状脳症 (Transmissible spongiform encephalopathy: TSE)は致死性の神経変性疾患であり、プリオン病とも呼ばれる。TSEにはヒツジのスクレイピー、牛海綿状脳症 (BSE)およびヒトのクロイツフェルト・ヤコブ病 (CJD) などが含まれる。英国においてBSE罹患牛由来の食品を介してヒトに感染する変異型CJDが明らかになり、家畜の疾病の一つにとどまらず我々ヒトに対する脅威でもあることが示された。我が国においては2001年にBSE罹患牛が確認されて以来、生産者と消費者の双方に大きな影響を与えている。

TSEの病原体の本質はいまだ明らかではないが、神経細胞をはじめ免疫系細胞など様々な細胞で発現しているプリオン蛋白（正常型プリオン蛋白：PrP^C）の立体構造が何らかの理由で変異し、蛋白分解酵素抵抗性を獲得した異常型プリオン蛋白（PrP^{Sc}）と考えられている。変異型CJDやBSEなど多くのTSEが食餌を介してプリオンに感染するため、プリオン病の予防および診断、治療を考える上で、経口感染における病態を明らかにすることは重要である。食餌に混入したPrP^{Sc}は、胃や消化管における消化もしくは代謝に抵抗性であり、感

染性に変化のない状態で主に小腸パイエル板から体内に侵入すると考えられている。小腸パイエル板を覆う濾胞随伴上皮（FAE、ドーム上皮）には管腔内の高分子を取り込むM細胞が存在し、細菌やウイルスの侵入部位として知られるが、プリオンの体内への侵入口としても有力であると考えられている。経口感染の病態に関する研究は数多くなされているが、小腸上皮からの侵入部位や、伝播を担う細胞およびその経路については未だ特定には至っておらず、不明な点が多い。本研究では、プリオンを経口投与したマウスから病態に関与している組織・臓器を経時的に採取し、異常型プリオン蛋白を検出する手法を用いて、PrP^{Sc}の伝播を担う細胞種および伝播経路を経時的に解析することにより病態の解明が試みられた。

異常プリオン蛋白の経口投与1時間後という非常に早期からM細胞によるPrP^C非依存的なPrP^{Sc}の取り込みが起ることを発見した。M細胞を介して生体に侵入したPrP^{Sc}はパイエル板に蓄積するが、蓄積に関与する細胞種はPrP^C発現の有無によって異なることに加え、PrP^C発現の有無に影響されずにPrP^{Sc}はパイエル板から他のリンパ組織へ移行するが、その期間はPrP^C発現に依存することが判明した。しかしながら、リンパ組織から中枢神経系への移行および発症に至るにはPrP^C発現が必須である。

本研究は、PrP^{Sc} への経口感染病態における生体内への侵入部位として M 細胞が大きな役割を果たしていることを世界で初めて明らかにし、中枢神経系への移行は神経症状を呈する以前から起こっている可能性を示した。本研究より得られた知見は TSE の経口感染病態の解明に貢献し、TSE の発症前診断法や予防法の確立に寄与すると考えられた。よって、本研究の成果が今後の TSE 研究に多大な貢献をもたらすことが大いに期待される研究であることを高く評価し、審査員一同は、本研究成果が博士(農学)の学位を授与するに値する研究であると認定した。